

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ДЕТЕРГЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ КРАСИТЕЛИ

М. МОЛНАР и Я. ХЕВЕШИ

Институт экспериментальной физики и Кафедра биофизики
Университета им. Атилы Йожефа, Сегед

(Поступило в редакцию 31 августа 1977 г.)

Физические процессы фотосинтеза могут быть легко исследованы в модельных системах *in vitro*, содержащих красители. Важным критерием применения модельных систем является их стабильность. В данной работе мы рассмотрели один из параметров, влияющих на стабильность, а именно, влияние температуры на проводимость мицеллярных систем, содержащих красители: тионин, родамин 6Ж и метиленовый голубой с концентрацией $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л, а также влияние температуры на спектры поглощения и спектры излучения. Мы установили, что применяемые системы очень чувствительно реагируют на изменения температуры. Однако температура не вызывает спектральных изменений и не вызывает смещений максимумов поглощения и излучения систем.

Введение

Для того, чтобы понять механизм и энергетику фотосинтеза, необходимо знать, наряду с другими факторами, микро- и субмикроструктуру хлоропласта, выполняющую главную роль при приеме света, а также ее функции. Однако, экспериментальное исследование физических процессов фотосинтеза в системах *in vivo* — задача трудная. Для изучения фотофизических процессов целесообразным кажется применение модельных систем *in vitro*. Один из групп обычно применяемых модельных систем, где хлоропласт в структурном отношении легко доступен, образуют детергентные системы, содержащие красители [1]. В мицеллярных системах *in vitro* хлоропласт, начиная от определенной концентрации, названной «критической концентрацией мицеллообразования» (ККМ), соответствует ламеллам; детергент-ламеллы [2], а органические красители, как например, тионин, родамин 6Ж и метиленовый голубой, соответствуют фотосинтетическим пигментам, находящимся в хлоропласте [3—5].

При использовании этих систем в ходе спектрофотометрических исследований система подвергалась ряду внешних воздействий: часто нагревалась, осеждалась. Следовательно, при их использовании важным вопросом является стабилизация их по отношению к этим влияниям. Значит, необходимо знать, в какой мере воздействуют эти влияния на спектроскопические и физические особенности применяемых мицеллярных систем. В детергентных системах, содержащих хлорофил, уже были проведены подобные исследования стабили-

зации [6], но в часто применяемых системах краситель-детергент, такие исследования еще не проводились.

В данной работе мы пытались выяснить среди прочих факторов, влияющих на особенности окрашенных детергентных систем, роль температуры.

Состав исследуемых систем, экспериментальные методы

В мицеллярной системе в качестве детергента мы применяли натрий-лаурилсульфат (SLS), а качестве органических красителей—тионин (Th), родамин 6Ж (Rh 6Ж) и метиленовый голубой (MB).

Концентрация детергента в рамках одной серии составляла: 0; $2 \cdot 10^{-3}$; $2,5 \cdot 10^{-3}$; $3 \cdot 10^{-3}$; $3,5 \cdot 10^{-3}$; $4 \cdot 10^{-3}$; $6 \cdot 10^{-3}$; и $8 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Концентрация применяемых красителей была постоянной $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Таким способом мы рассмотрели три системы: тионин + детергент (Th + SLS), родамин 6Ж + детергент (Rh 6Ж + SLS), и метиленовый голубой + детергент (MB + SLS). Наши исследования проводились при температурах: 30 °C, 50 °C и 70 °C. При этих трех температурах мы измеряли удельную проводимость; спектры поглощения и излучения растворов.

При измерении проводимости мы применяли кондуктометр типа ОК—102 (Radelkis), а также измерительную пластинку (электрод-колокол) типа ОК—902. В целях сохранения постоянной температуры мы применяли термостатированный измерительный сосуд. Термостабилизацию препаратов мы проводили с помощью термостата типа Ministat—607.

Для измерения поглощения мы применяли двухлучевый спектрофотометр типа Optica Milano CF—4 DR. Для сохранения постоянной температуры использовали термостатированную кювету и термостат типа U—10 Höppler. Для измерения спектров излучения мы применяли спектрофотометр типа ДФС—12. Измерение излучения проводили при постоянной температуре указанным методом.

Результаты экспериментов, и их обсуждение

1. Измерение электропроводности

Мы исследовали проводимость трех систем краситель-детергент, при трех разных температурах, в зависимости от концентрации детергента. Полученные результаты показали, что величина ККМ при трех исследованных температурах составляла $3,5—3,8 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Наши результаты показали, что при более высокой температуре степень мицеллизации меньше. Это означает, что электрические свойства веществ чувствительно реагируют на изменение температуры.

2. Измерения спектров поглощения

В ходе исследования светопоглощения системы Th + SLS многие авторы [7, 8] указывали, что при внесении в систему детергента между детергентом и молекулами красителя имеет место взаимодействие; возникают нерастворимые в воде сложные соли. На присутствие комплексов в спектре поглощения ука-

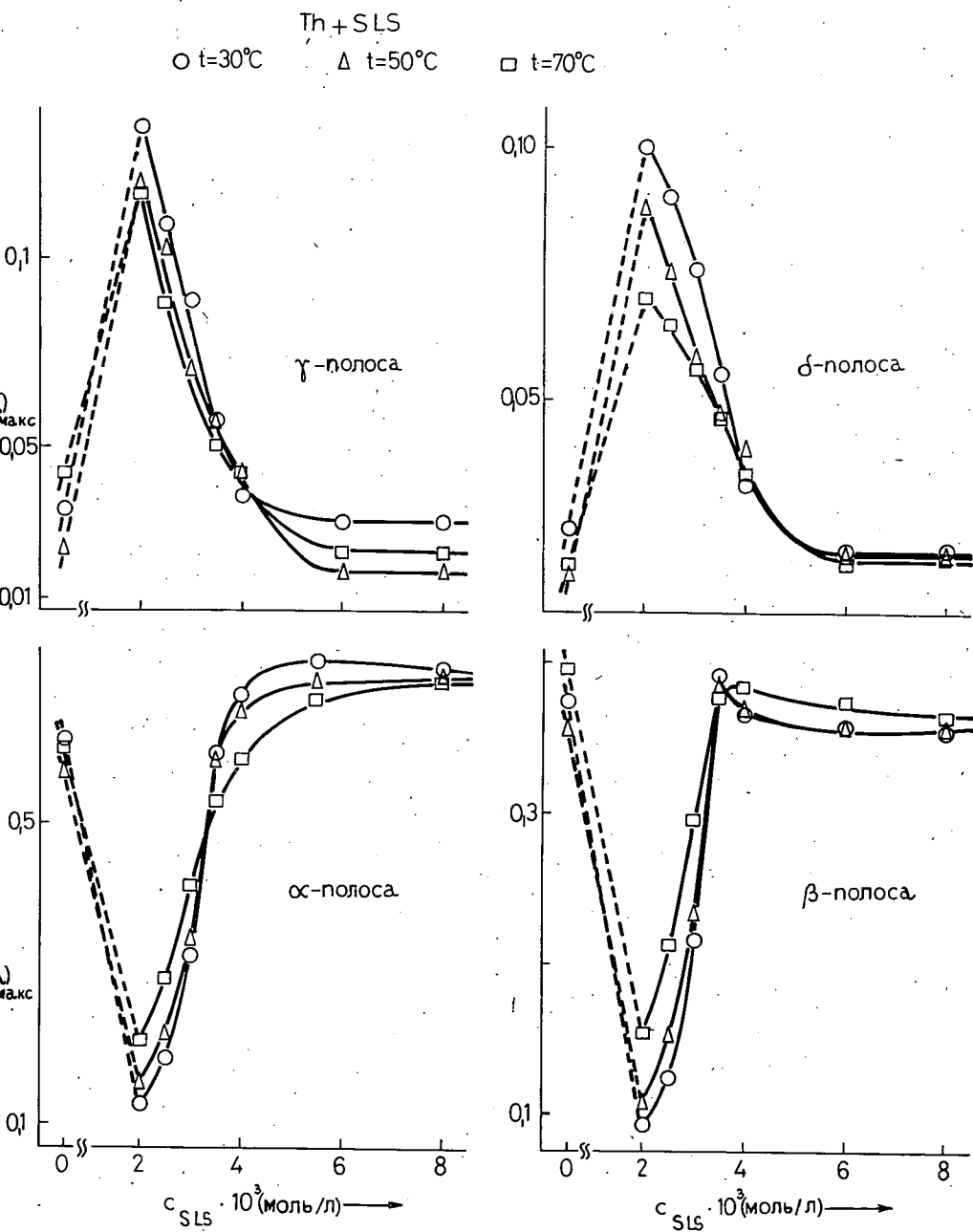


Рис. 1.

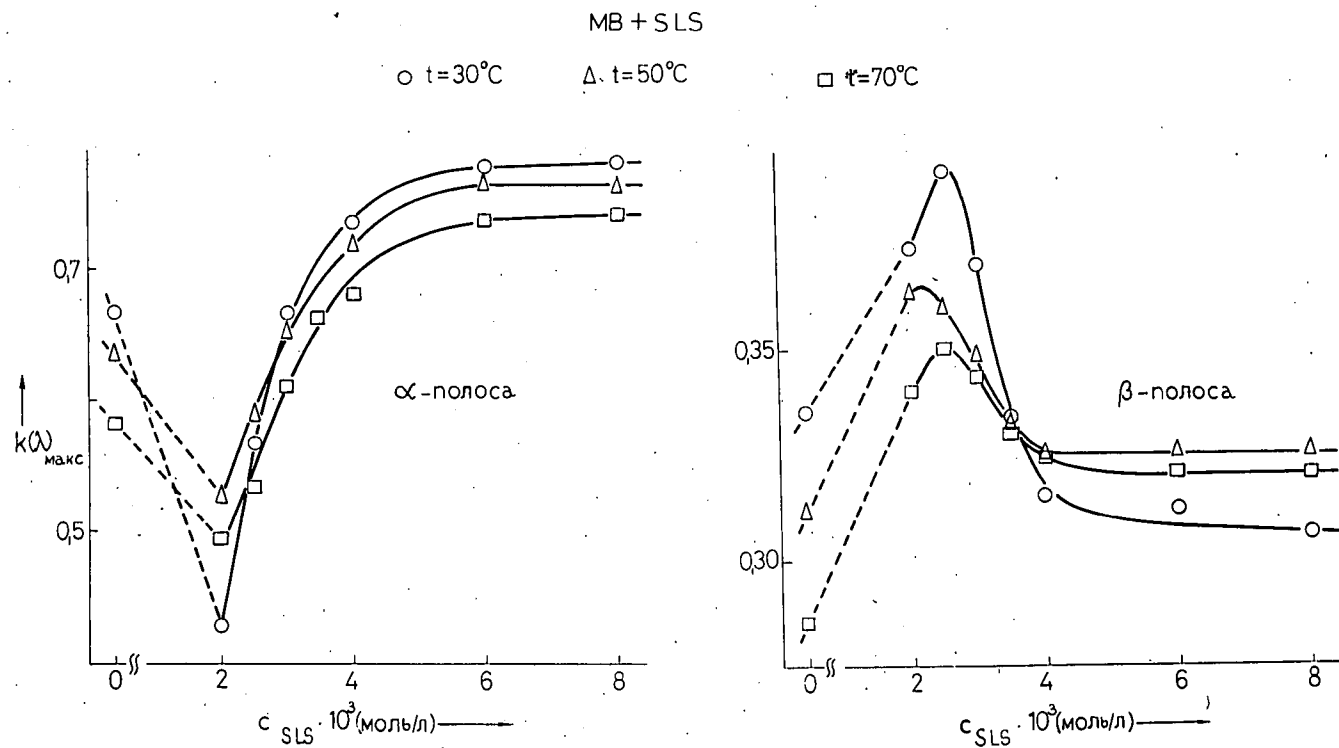


Рис. 2.

зывают возникающие местные максимумы. Например, появление в спектре поглощения системы Th+SLS так называемая α -полоса (около 600 нм) — красители-мономеров, β -полоса (около 565 нм) — димеры и γ -полоса (около 465 нм) — сложные соли красителя-детергента, δ -полоса (около 640 нм) — объясняются образованием агрегатов красителя более высокой степени. Величины максимумов этих полос в зависимости от температуры и концентрации детергента изображены на рис. 1.

На рисунке видно, что с возрастанием температуры величины максимумов α - и β -полос по сравнению с соответствующими величинами водного раствора (где ниже ККМ) немного понижается, а выше ККМ несколько превышают величины α и β водного раствора. Последнее явление объясняется тем, что при более высоких температурах агрегаты красителя образуются все труднее и труднее. Величины γ - и δ -полос с возрастанием температуры уменьшаются, т. е. практически исчезают. Сложные соли с возрастанием температуры все более становятся растворимыми и, таким образом, появляется возможность вхождения молекул красителей в мицеллы.

На рисунке хорошо видно, что у α -полосы кривые, полученные при трех температурах, пересекаются в одной точке. Эта точка находится при концентрации детергента $3,5 \cdot 10^{-3}$ моль/л, следовательно, явно приближается к величине ККМ, полученной при измерении электропроводности.

Изменение максимумов поглощения системы MB+SLS показано на рис. 2. В этой системе спектр поглощения имеет два максимума (α -полоса, возникшая из мономеров, она находится около 665 нм, и β -полоса, возникшая из димеров, эта полоса лежит около 615 нм).

Температурным изменением величин α -полосы можно установить, что величины, измеренные при $t=50^\circ\text{C}$ и $t=70^\circ\text{C}$ изменяются параллельно друг другу таким образом, что величины найденные при более высокой температуре меньшие.

Наибольшее изменение показывает кривая, полученная при $t=30^\circ\text{C}$. Величины β -полосы (ниже ККМ) уменьшаются под влиянием повышения температуры, а это в свою очередь указывает на то, что в это время сложные соли краситель-детергент (ими объясняется частично появление β -полосы [9]) постепенно растворяются. Три кривые, показывающие температурную зависимость β -полосы, также пересекаются в одной точке, а именно, около величины ККМ.

3. Измерения спектров излучения

Результаты измерений излучения, проведенные в системе показаны на рис. 3. На рисунке мы отметили относительные величины (интенсивность растворов, не содержащих SLS, мы взяли произвольно за 100).

На рисунке видно, что при малых концентрациях детергента с возрастанием температуры интенсивность флуоресценции повышается, в то же время при больших концентрациях детергента наблюдается влияние температурного тушения. Точка пересечения кривых, изображенных на рисунке, соответствует приблизительно величине ККМ.

В таблице мы отметили, относительные значения максимумов спектров излучения и места максимумов (в нм) во всех трех исследованных системах. По этим данным видно, что изменение температуры не влияет на положение

Таблица

Значения интенсивности и положение максимумов люминесценции систем
краситель-детергент

$C_{SLS} \cdot 10^3$ (моль/л)	Th+SLS			Rh 6Ж+SLS			MB+SLS		
	30 °C	50 °C	70 °C	30 °C	50 °C	70 °C	30 °C	50 °C	70 °C
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	619,0	620,0	619,0	552,0	552,5	553,5	685,0	684,0	687,0
2	17,3	32,0	53,9	21,2	29,3	16,3	4,8	31,5	56,5
	618,5	621,5	623,0	558,5	561,0	555,0	685,0	684,0	685,0
2,5	24,7	37,0	58,9	44,1	41,9	19,2	7,0	45,4	70,1
	622,0	621,5	621,5	560,0	561,0	557,5	683,5	682,5	685,0
3	42,3	42,6	62,6	61,5	56,6	35,8	26,5	81,0	81,0
	621,5	621,0	621,5	559,5	560,5	559,5	683,0	682,0	683,5
3,5	76,4	73,2	71,2	82,1	66,5	45,9	62,5	102,9	104,3
	621,0	620,5	620,5	560,0	560,0	559,5	683,0	683,5	683,5
4	146,4	121,3	81,8	84,8	75,4	61,3	128,8	139,1	124,9
	621,0	619,5	620,0	559,0	559,0	558,0	682,5	681,5	683,5
6	179,4	160,7	134,9	80,6	75,8	71,9	210,0	186,9	170,0
	620,5	620,5	620,5	559,0	557,5	557,0	681,5	681,5	683,0
8	179,0	166,7	143,6	81,9	74,3	74,4	209,0	187,9	184,0
	620,5	620,0	619,5	557,0	555,0	557,0	681,5	681,0	681,0

спектров излучения. Из таблицы видно, что значительное влияние температуры на свойства излучения наблюдается в системах Rh 6Ж: с повышением температуры уже при $t = 50^\circ\text{C}$ имеет место значительное температурное тушение, но в особенности это проявляется при $t = 70^\circ\text{C}$. Влияние тушения наблюдается при всех концентрациях детергента.

Влияние температуры показано и в случае систем MB+SLS. С повышением температуры (ниже ККМ) возрастают и величины интенсивности флуоресценции, а выше ККМ, значительную роль играет температурное тушение.

Наши результаты показывают, что исследованные системы чувствительно реагируют на изменение температуры. Повышение температуры влечет за собой снижение степени мицелляции. Температура влияет также и на интенсивности полос поглощения. Возрастающая температура (ниже ККМ), как правило, увеличивает интенсивность флуоресценции, а при концентрациях детергента выше ККМ всегда наблюдается влияние температурного тушения. В спектре излучения изменение температуры не вызывает спектральных смещений.

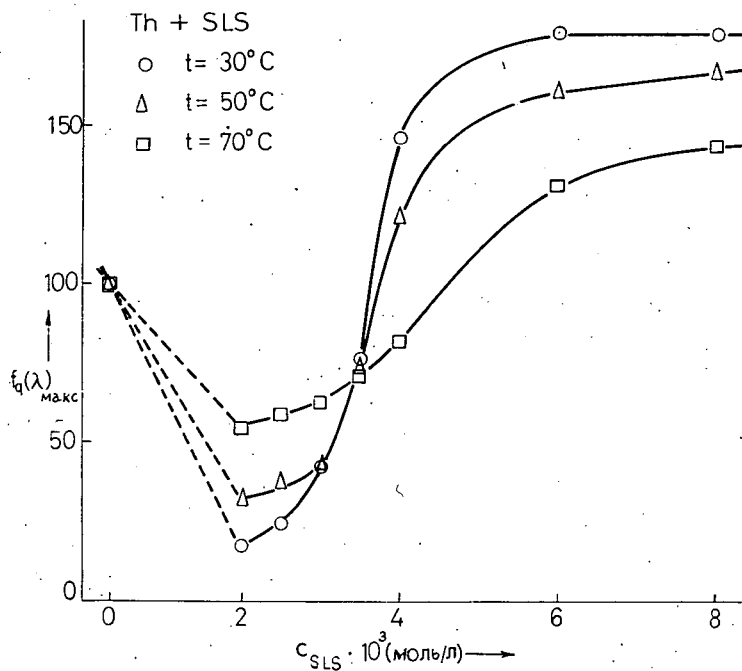


Рис. 3.

Литература

- [1] Singhal, G. S., E. Rabinowitch, J. Hevesi, V. Srinivasan: Photochem. Photobiology **11**, 531 (1970).
- [2] Winsor, P. A.: Chem. Rev. **68**, 1 (1968).
- [3] Хевеши, Я., Э. Лехоцки, Э. Балинт: ЖПС. **13**, 456 (1970).
- [4] Hevesi, J., E. Bálint, E. Lehoczki: Acta Phys. Polon. **A38**, 839 (1970).
- [5] Bálint, E., J. Hevesi, E. Lehoczki: Acta Phys. et Chem. Szeged **17**, 119 (1971).
- [6] Wagner, B. R.: Spektroskopische und photochemische Untersuchungen an Chlorophyllhaltigen Netzmittelmizellen, Dissertation, der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen (1969).
- [7] Bálint, E., E. Lehoczki, J. Hevesi: Acta Phys. et Chem. Szeged **17**, 15 (1971).
- [8] Lehoczki, E., J. Hevesi: Acta Phys. et Chem. Szeged **18**, 11 (1972).
- [9] Rózsa, Zs.: Dissertation, Szeged (1973).

THE EFFECT OF TEMPERATURE ON THE DYE-DETERGENT (MICELLE) SYSTEMS

M. Molnár and J. Hevesi

The physical process of photosynthesis can be investigated very well on *in vitro* dye-detergent model systems. Important criteria of the applicability of model systems is their stability. This work presents the investigation of the effect of temperature on the conductivity the absorption and emission spectra of micelle systems containing $5 \cdot 10^{-6}$ M Thionine; Rhodamine 6G, and Methylene Blue dyes. It has been found the used systems react sensitively to the temperature. Therefore the change of temperature does not cause spectral changes *i. e.* the wavelength of absorption and emission maxima does not change.